

CH 661 206 A5

(19)



CONFÉDÉRATION SUISSE

OFFICE FÉDÉRAL DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

Brevet d'invention délivré pour la Suisse et le Liechtenstein
Traité sur les brevets, du 22 décembre 1978, entre la Suisse et le Liechtenstein

(11) CH 661 206 A5

(51) Int. Cl.: A 61 K 9/52

// A 61 K 37/43

(12) FASCICULE DU BREVET A5

234

(21) Numéro de la demande: 5187/83

(73) Titulaire(s):
Debiopharm S.A., Lausanne

(22) Date de dépôt: 23.09.1983

(72) Inventeur(s):
Tice, Thomas Robert, Birmingham/AL (US)
Orsolini, Piero, Martigny
Mauvernay, Roland Yves, Martigny
Schally, Andrew Victor, New Orleans/LA (US)

(24) Brevet délivré le: 15.07.1987

(45) Fascicule du brevet
publié le: 15.07.1987

(74) Mandataire:
Kirker & Cie SA, Genève

(54) Procédé pour la préparation d'un médicament destiné au traitement de maladies hormonodépendantes.

(57) On prépare un médicament destiné au traitement de maladies hormonodépendantes et contenant à titre de principe actif l'hormone de libération de l'hormone lutéinisante et de l'hormone de stimulation des follicules (LH-RH) ou de l'un de ses analogues synthétiques, en enrobant le principe actif par micro-encapsulation au moyen d'un copolymère de D,L-lactide/glycolide.

REVENDECATIONS

1. Procédé pour la préparation d'un médicament destiné au traitement de maladies hormonodépendantes et contenant, à titre de principe actif, l'hormone de libération de l'hormone lutéinisante et de l'hormone de stimulation des follicules (LH-RH) ou de l'un de ses analogues synthétiques, caractérisé en ce qu'on enrobe ledit principe actif par micro-encapsulation au moyen d'un copolymère de D,L-lactide/glycolide.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'analogue synthétique de LH-RH est choisi parmi les composés suivants: (pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂, (pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Phe-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂, et (pyro)Glu-His-Trp-D-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NHR¹ (R¹ = alkyle inférieur).

3. Procédé selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que les proportions molaires de DL-lactide et de glycolide dans le copolymère DL-lactide/glycolide sont comprises entre 50:50 et 55:45.

4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le copolymère de DL-lactide/glycolide possède un poids moléculaire moyen (M_w) compris entre 36 000 et 54 000 et une viscosité inhérente comprise entre 0,50 et 0,70 dl/g.

5. Procédé selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le composé enrobé se présente sous forme de particules sphériques ayant un diamètre compris entre 30 et 50 µm.

6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que le composé actif représente entre 1,70 et 2,90% (poids) du poids total de la particule.

7. Médicament obtenu au moyen du procédé selon la revendication 1.

8. Médicament selon la revendication 7, caractérisé en ce qu'il libère le composé pharmacologiquement actif durant une période comprise entre 25 et 30 jours, *in vivo* ou dans des conditions analogues.

L'invention traite du domaine de la pharmacologie. Elle a plus précisément pour objet un procédé pour la préparation d'un médicament destiné au traitement de maladies hormonodépendantes et contenant, à titre de principe actif, l'hormone de libération de l'hormone lutéinisante et de l'hormone de stimulation des follicules (LH-RH) ou de l'un de ses analogues synthétiques, caractérisé en ce qu'on enrobe ledit principe actif par micro-encapsulation au moyen d'un copolymère de D,L-lactide/glycolide.

L'invention a également pour objet un médicament destiné à exercer un effet antagoniste sur les maladies hormonodépendantes contenant, à titre d'ingrédient pharmacologiquement actif, un composé tel que défini ci-dessus enrobé conformément audit procédé.

L'hormone de libération de l'hormone lutéinisante et de l'hormone de stimulation des follicules (LH-RH) est un décapeptide ayant la structure suivante:



Tout comme ses analogues synthétiques mentionnés plus haut, elle exerce un effet antagoniste sur de nombreux processus biologiques propres aux mammifères et a de ce fait été proposée, entre autres, à titre d'agent régulateur de l'ovulation. En médecine humaine, de tels composés sont avantageusement utilisés dans le traitement de certains troubles endocrinologiques, tels les troubles du cycle menstruel par exemple, ou encore en contraception (voir p. ex. à ce sujet brevet suisse N° 615 662).

Que les processus biologiques hormonodépendants soient d'origine malade ou purement naturels, il est apparu dans de nombreux cas souhaitable d'administrer les composés susmentionnés de

manière continue sur des périodes prolongées, de préférence sous forme de doses à longue durée d'action, à libération lente ou de dépôt. De telles formes sont connues et abondamment utilisées dans divers domaines de la médecine et peuvent par exemple consister en un sel à faible degré de solubilité dans les fluides corporels, en un liquide fortement visqueux. On a dernièrement proposé, en ce qui concerne les composés susmentionnés, l'emploi de matériaux polymères biocompatibles, tels des copolymères de D,L-lactide et de glycolide: à l'aide de tels matériaux, on a pu réaliser des matrices pouvant adsorber l'ingrédient pharmacologiquement actif et le restituer de façon contrôlée (voir p. ex. demande de brevet EP N° publication 0058481). L'emploi de copolymère de D,L-lactide et de glycolide a été également proposé comme matière d'enrobage de LH-RH et de certains de ses analogues lors de la préparation de microcapsules (voir p. ex. demande de brevet EP N° publication 0052510). On dispose ainsi de formes appropriées à la préparation de médicaments, dits « retard », exerçant un effet antagoniste sur diverses maladies hormonodépendantes.

Indépendamment de ce qui précède, on a tout dernièrement proposé l'emploi de LH-RH ou de certains de ses analogues synthétiques pour le traitement de maladies hormonodépendantes sur lesquelles de tels composés doivent exercer un effet antagoniste (voir p. ex. A. V. Schally *et al.* dans « Frontiers in Medicine — Implications for the Future », Human Sciences Press, New York (1983); Biomed. Pharmacother. 36, no 2, 125 (1982)). Parmi de telles maladies, on peut citer entre autres le cancer du sein ou de la prostate, l'endométriose ou l'hyperplasie prostatique bénigne. Lors de tels traitements, il est apparu des plus souhaitable de pouvoir administrer de tels composés dans les meilleures conditions, étant donné les effets secondaires parfois indésirables de LH-RH et de ses analogues synthétiques: il est en effet connu que ces composés exercent un effet de stimulation initiale du taux de testostérone par exemple, qui s'oppose alors à l'effet thérapeutique souhaité. Le praticien qui se trouve ainsi confronté à ce problème est aujourd'hui demeuré, de moyens efficaces permettant d'administrer des doses suffisamment fortes de composés à effet antagoniste sans toutefois que cette administration s'accompagne d'effets secondaires néfastes.

L'invention a le mérite de proposer une solution nouvelle et originale au problème exposé ci-dessus. Grâce au procédé objet de la présente invention, on peut désormais administrer des doses qui, pour un contenu identique en ingrédient pharmacologiquement actif (LH-RH ou analogue synthétique), démontrent un effet antagoniste notablement supérieur à celui obtenu par l'administration dudit ingrédient sous une forme non enrobée. Un tel effet, que l'on peut qualifier de synergétique, était totalement imprévisible en l'état actuel de nos connaissances. Cet effet se double en outre avantageusement de la diminution simultanée de l'effet de stimulation initiale inhérent aux composés susnommés.

On parvient au but assigné à l'invention en procédant à l'enrobage de LH-RH ou de l'un de ses analogues synthétiques au moyen d'un copolymère de D,L-lactide/glycolide. Un tel copolymère est connu (voir *op. cit.*) et son obtention dans une qualité adéquate à la mise en œuvre du procédé de l'invention s'effectue selon des techniques connues. Selon l'invention, les proportions molaires de D,L-lactide et de glycolide dans ledit copolymère peuvent varier de façon étendue. Elles sont de préférence comprises entre environ 50:50 et environ 55:45.

Le poids moléculaire moyen dudit copolymère peut également varier de façon relativement étendue, de même que la viscosité inhérente qui lui est corrélée. Selon l'invention, on utilise de préférence un copolymère de D,L-lactide/glycolide possédant un poids moléculaire moyen (M_w: « weight average-molecular weight ») compris entre environ 36 000 et environ 54 000 et une viscosité inhérente comprise entre environ 0,50 et environ 0,70 dl/g. En procédant à l'enrobage de microparticules, selon les techniques usuelles, au moyen de copolymères tels que définis ci-dessus, on est parvenu à un rendement d'enrobage élevé, de l'ordre de 70 à 90% de la théorie selon les cas.

En procédant de la sorte, on obtient des microparticules de formes et de dimensions aisément contrôlables et dont la teneur en poids d'ingrédient pharmacologiquement actif peut être également contrôlée avec soin. Pour obtenir l'effet souhaité, on utilise, selon l'invention, des microparticules de forme sphérique présentant de préférence un diamètre compris entre environ 30 et environ 50 μm et dont la teneur en ingrédient actif enrobé représente entre environ 1,70 et environ 2,90% (poids) du poids total. Le détail des valeurs caractéristiques des microparticules obtenues est donné dans les exemples ci-dessous.

Les paramètres identifiant ci-dessus les microparticules obtenues conformément au procédé de l'invention définissent un produit capable de libérer, *in vivo* ou dans des conditions analogues, le composé pharmacologiquement actif durant une période comprise entre environ 25 et environ 30 jours.

Le procédé de l'invention a également l'avantage de permettre la préparation des microparticules enrobées dans des conditions quasiment stériles, étant donné que ladite encapsulation s'effectue en milieu essentiellement organique (chlorure de méthylène et heptane par exemple), le décapeptide à enrober étant alors dissous dans l'eau stérile. Pour leur administration en médecine humaine cependant, les microparticules enrobées sont stérilisées de préférence par irradiation gamma: il a été observé qu'une telle méthode de stérilisation n'affectait en rien les propriétés du produit ainsi préparé. Lesdites microparticules, en outre, peuvent être conservées dans les conditions usuelles de stockage de tels médicaments pour des périodes prolongées, allant par exemple de 4 à 6 mois pour des températures de l'ordre de 4 ou 21° C.

Pour exercer l'effet antagoniste recherché, on administre de préférence lesdites microparticules sous forme de suspensions injectables. Les dimensions (30 à 50 μm) des particules obtenues selon le procédé de l'invention permettent en effet la préparation de suspensions pouvant s'injecter sans difficulté aucune. Les solvants biocompatibles utilisés à cet effet sont les solvants usuels dans l'art. L'injection se fait en général de façon intramusculaire. Les doses à injecter varient fortement selon la nature de l'affection à traiter, la localisation des zones à traiter et l'état général du patient. Exprimées en poids de composé pharmacologiquement actif (décapeptide), de telles doses peuvent avantageusement se situer entre 0,1 et 10 microgrammes par jour et par kilo de poids corporel (doses exprimées en poids de composé pharmacologiquement actif libéré à partir d'une dose initiale unique de composé enrobé).

Divers essais, effectués à titre comparatif dans des conditions appropriées, ont montré que pour des doses journalières de composé actif enrobé identiques à des doses comparables de composé actif non enrobé, on observait un effet thérapeutique notablement plus important. Cette observation a été également vérifiée lorsque la dose de composé actif enrobé était de 50% (poids) environ inférieure à celle du composé non enrobé.

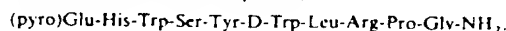
Lors d'essais comparatifs *in vivo* effectués sur le rat par exemple, on a observé que l'administration de doses identiques en composé (décapeptide) pharmacologiquement actif conduisait à une diminution d'une tumeur prostatique de 27% environ en poids dans le cas du composé actif non enrobé et de 80% environ en poids dans le cas du composé actif enrobé. Lors de tels essais, on a en outre constaté un abaissement de près de 80%, selon les cas, du taux de testostérone sanguin chez les individus traités.

L'invention sera illustrée de façon plus détaillée à l'aide des développements ci-après.

Exemple 1:

Enrobage d'un décapeptide

Les diverses opérations conduisant à la préparation d'un composé pharmacologiquement actif enrobé ont été effectuées avec le composé de formule (= composé A)



Ce composé avait été obtenu conformément au procédé décrit par exemple dans le brevet suisse N° 615 662; il présentait un contenu en peptides de 80% environ en poids.

Enrobage:

1,0 g de copolymère de D,L-lactide/glycolide 50:50 (poids moléculaire moyen environ 53 000) a été premièrement dissous dans 50 g de chlorure de méthylène et placé dans un réacteur muni d'une turbine à agitation. On a préparé séparément une solution de 30,4 mg de composé A dans 300 micro-l d'eau stérile, puis cette solution a été progressivement ajoutée au mélange organique. Durant cette addition, l'agitation du mélange a été maintenue à environ 2000 tours/min. 30 ml d'huile de silicone (Dow Corning Fluid 200) ont été ensuite introduits dans le mélange réactionnel agité, à raison d'environ 2 ml/min. Une fois l'addition d'huile de silicone terminée, le mélange contenant les microparticules embryonnaires a été versé dans 2 l d'heptane pour permettre le durcissement de celles-ci et agité durant 30 minutes à environ 800 tours/min. Après filtration, le produit résultant a été séché sous pression réduite durant 24 h.

Le produit ainsi obtenu a été isolé avec un rendement de 76% (théorie).

Caractérisation:

- particules sphériques de diamètre compris entre 30 et 40 microns (déterminé par photocopies prises au microscope électronique à balayage)
- contenu en composé enrobé 2,07% en poids (efficacité de l'encapsulation: 70% de la théorie). La teneur en composé enrobé est mesurée après dissolution des microparticules dans le chlorure de méthylène, extraction à l'aide d'un tampon phosphate (pH 7,4) et titrage à l'aide d'un procédé de chromatographie liquide sous haute pression.

Les microparticules ainsi obtenues peuvent être ensuite administrées *in vivo*, après éventuelle irradiation gamma (2 Mrad).

Exemple 2:

En faisant varier divers paramètres du procédé d'enrobage décrit à l'exemple 1, on est parvenu aux résultats rassemblés dans le tableau N° 1. Le composé A utilisé présentait un contenu en peptide de 80% (poids) environ.

Le tableau N° 2 précise les caractéristiques physiques des produits ainsi obtenus. Les divers échantillons de microparticules ont été testés, en ce qui concerne leur taux de libération en composé A, dans une solution aqueuse de phosphate monozodique 0,01 molaire (pH 7,4) à 37° C.

Exemple 3:

L'effet antagoniste du composé A, sous forme enrobée (voir exemples ci-dessus) ou non, a été étudié sur des rats porteurs de la tumeur prostatique R-3327-H selon Dunning (DUNNING R-3327-H PROSTATE CARCINOMA).

Les essais *in vivo* ont porté sur des groupes de 7 à 10 animaux durant une période de 30 jours.

L'administration du composé A non enrobé, convenablement dissous dans un solvant biocompatible, a été effectuée par voie sous-cutanée, à raison de 2 doses journalières de 25 micro-g en composé A chacune (tableau N° 3), respectivement 2 doses journalières de 12,5 micro-g chacune (tableau N° 4).

L'administration du composé A sous forme enrobée, en suspension dans un solvant biocompatible, a été effectuée par voie intramusculaire pour correspondre à une dose journalière de 25 micro-g, libérée à partir d'une dose initiale de composé A enrobé.

Les résultats des observations effectuées sont rassemblés dans les tableaux N° 3 et 4 ci-après. Parallèlement, l'évolution du taux de testostérone a été mesurée au cours de cette période de 30 jours sur des individus recevant une dose journalière globale de 25 micro-g en composé A. La figure N° 1 montre clairement l'augmentation de

l'effet antagoniste du composé A enrobé (abaissement du taux de testostérone sanguin):

— administration de la forme non enrobée
 administration de la forme enrobée

Exemple 4:

L'inhibition des effets de stimulation initiale du composé A a été testée *in vivo* sur deux groupes distincts de 5 patients chacun. Les dosages hormonaux dans le sang ont porté sur:

— taux de testostérone, exprimé en ng/ml
 taux d'hormone lutéinisante, exprimé en mIU/ml

4

..... : taux d'hormone de stimulation des follicules, exprimé en mIU/ml

La figure N° 2 rassemble les résultats obtenus sur le premier groupe de patients traités à raison de 100 gamma de composé A non enrobé par jour durant 5 jours, puis à raison de 100 gamma par jour, libérés à partir d'une dose initiale unique de composé A enrobé.

La figure N° 3 rassemble les résultats obtenus sur le second groupe de patients traités à raison de 100 gamma par jour, libérés à partir d'une dose initiale unique de composé A enrobé. La figure N° 3 montre clairement l'absence totale de l'effet de stimulation initiale sur la testostérone.

Tableau 1

Essai n°	Copolymère (g)*	CH ₂ Cl ₂ (g)	Comp. A (mg)	Huile de silicone ¹ (ml)	Rotation tours/min	Rendement (%)
1	2,00	122,0	105,7	60	2000	89,3
2	1,00	50,0	30,4	30	2000	75,7
3	4,30	204,0	141,4	90	2000	97,3
4	1,00	50,0	33,2	30	2000	100,0
5	1,00	51,0	43,1	30	2000	76,7
6	6,00	306,0	180,6	150	2000	85,7
7	6,30	326,0	182,4	140	2000	86,4
8	6,00	409,0	190,0	150	2400	82,4
9	1,00	50,0	30,0	30	2300	75,7
10	15,00	750,0	310,0	350 ²	430	88,0

¹ Dow Corning Fluid 200, 35 cSt (Dow Corning Corp., Midland)

² Addition de 200 ml à raison de 10 ml/min, suivie de 150 ml à raison de 2 ml/min

* Copolymère de D,L-lactide: glycolide 50:50

Tableau 2

Essai n°	Teneur comp. A (% poids)	Efficacité de l'encapsulation (% théorie)	Libération comp. A* (% poids)
1	2,54	50,6	58
2	2,07	70,2	17
3	2,36	74,5	non dét.
4	1,84	57,3	4
5	—	—	non dét.
6	2,23	74,3	12
7	—	—	non dét.
8	2,65	86,6	10
9	1,72	59,1	non dét.
10	1,69	84,0	41

* Taux de libération mesuré après immersion durant 6 h à 47 °C dans une solution aqueuse 0,01 de phosphate monosodique.

Tableau 3

Mesure effectuée (unité)	Contrôle	Composé A	
		enrobé	non enrobé
Poids corporel final (g)	339 ± 13	342 ± 14	347 ± 28
Partie ventrale de la prostate (mg)	337 ± 48	44 ± 6	54 ± 5

35

Tableau 3 (suite)

Mesure effectuée (unité)	Contrôle	Composé A	
		enrobé	non enrobé
Testicules (g)	2,81 ± 0,13	1,15 ± 0,08	1,36 ± 0,14
Tumeur* (mg)	922 ± 150	186 ± 95	546 ± 31
Augmentation du volume de la tumeur* (%)	227 ± 32	106 ± 21	85 ± 19

* (Dunning R-3327-II Prostate Carcinoma)

50

Tableau 4

Mesure effectuée (unité)	Contrôle	Composé A	
		enrobé	non enrobé
Poids corporel final (g)	362 ± 9	363 ± 11	361 ± 11
Partie ventrale de la prostate (mg)	419 ± 39	47 ± 5	88 ± 7
Testicules (g)	3,14 ± 0,07	1,26 ± 0,06	1,83 ± 0,07
Tumeur* (mg)	357 ± 118	68 ± 32	260 ± 68
Augmentation du volume de tumeur* (%)	157 ± 23	81 ± 17	110 ± 28

* (Dunning R-3327-II Prostate Carcinoma)

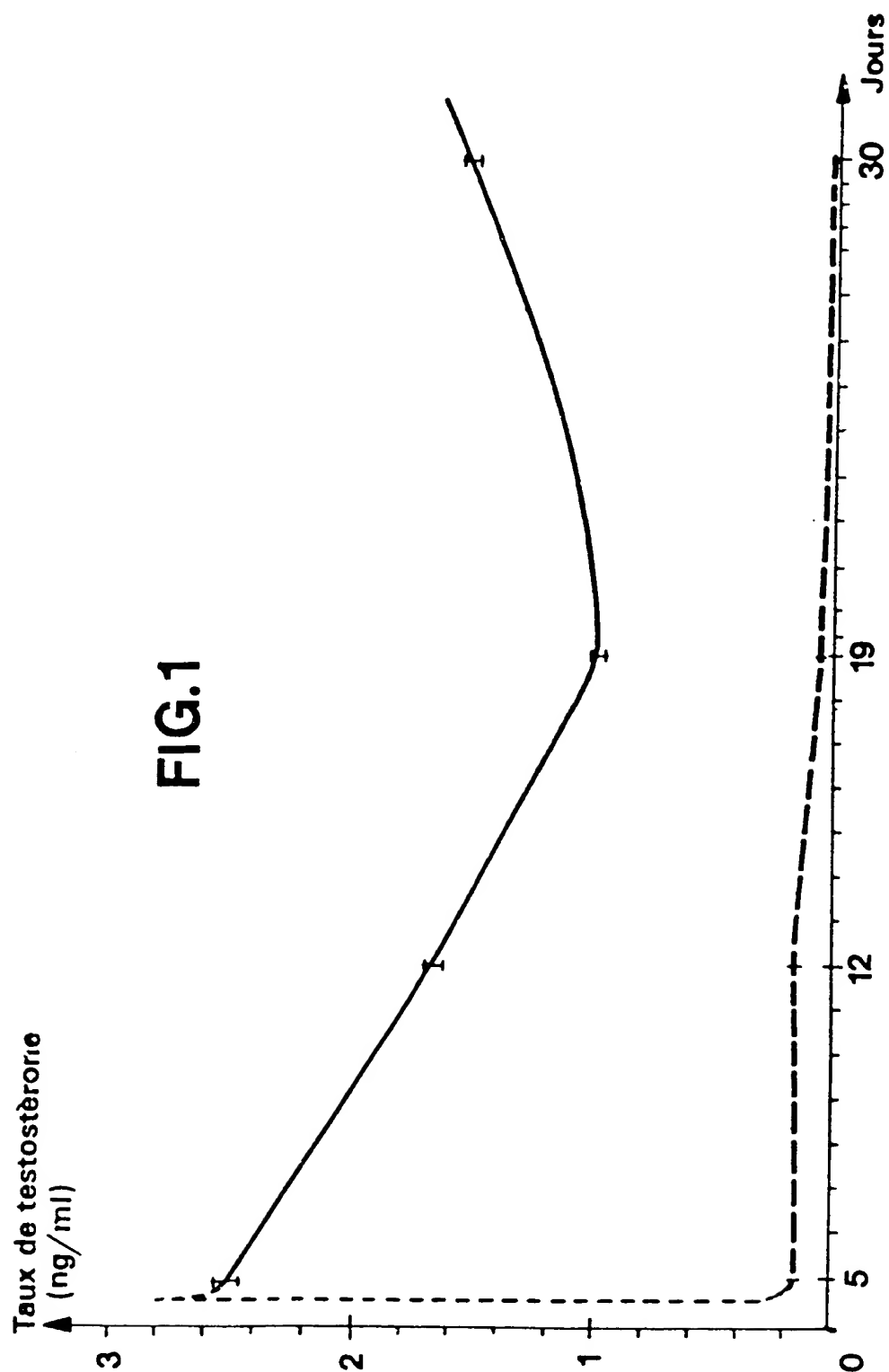
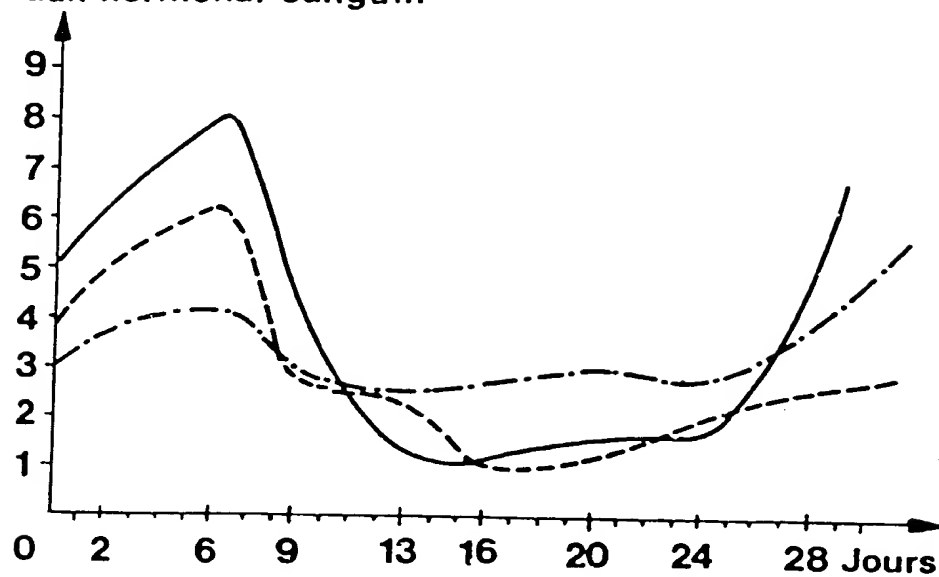


FIG. 2

Taux hormonal sanguin

**FIG. 3**

Taux hormonal sanguin

